

2022 년 6 월

QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit 사용 설명서(안내서)



버전 3

IVD

체외 진단용

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 와 함께 사용



REF

61104



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1 **MAT**

1127543KO

목차

용도.....	4
대상 사용자.....	4
설명 및 원리.....	5
혈액 세포 용해.....	5
QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막에 유전체 DNA 결합.....	5
잔류 오염물질 제거.....	5
순수 유전체 DNA 용출.....	6
유전체 DNA 의 수율 및 품질.....	6
QIAcube Connect MDx 에서의 자동 정제.....	6
요약 및 설명.....	9
제공물.....	10
키트 내용물.....	10
키트의 구성품.....	11
필요하지만 제공되지 않는 품목.....	12
추가 시약.....	12
소모품.....	12
장비.....	12
진공 절차에만 해당.....	12
자동 절차에만 해당.....	13
경고 및 사전 주의사항.....	14
안전성 정보.....	14
사전 주의사항.....	15

일회용품	16
시약 보관 및 취급	17
사용 중 안정성	17
시료 수집, 보관 및 취급	18
중요 참고사항	20
프로토콜 시작 전 중요 사항	20
시약 및 완충액 준비	21
QIAamp Mini 스피ن 컬럼 취급	22
QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비	23
절차	25
프로토콜: QIAcube Connect MDx 에서 마이크로 원심분리기/자동화된 정체를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제	25
프로토콜: 진공 시스템을 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제 ...	29
품질 관리	33
제한 사항	34
성능 특징	35
문제 해결 가이드	36
기호	39
주문 정보	42
문서 개정 이력	44

용도

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 생물학적 시료에서 유전체 DNA 를 분리 및 정제하는 시스템입니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 체외 진단용입니다.

대상 사용자

이 제품은 분자생물학 기법에 대한 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

설명 및 원리

각 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차는 4 단계로 구성되어 있습니다.

- 혈액 검체 내 세포 용해
- QIAamp Mini 스피ن 컬럼의 막에 세포 용해물 내 유전체 DNA 결합
- 막 세척
- 막으로부터 유전체 DNA 용출

이 안내서는 2 가지 대안 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차를 포함하고 있으며 이는 원심분리를 필요로 하거나 QIAcube® Connect MDx(그림 1)에서 자동화할 수 있는 스피ن 절차와 원심분리 및 진공 시스템을 필요로 하는 진공 절차입니다(순서도, 8 페이지 참조).

혈액 세포 용해

검체를 고온 및 변성 조건에서 분리합니다. 용해는 QIAGEN® Protease (QP) 및 용해 완충액(AI)이 있는 상태에서 실시합니다.

QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막에 유전체 DNA 결합

QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막으로의 유전체 DNA 결합을 최적화하기 위해, 먼저 에탄올을 용해물에 첨가합니다. 그리고 각 용해물을 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에 넣으면 용해물이 진공 압력 또는 원심분리력에 의해 유인되면서 유전체 DNA 가 실리카 막에 흡착됩니다.

잔류 오염물질 제거

유전체 DNA 가 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막에 결합된 상태에서도 세척 완충액 1(AW1) 및 세척 완충액 2(AW2) 순서로 세척하여 오염물질을 제거할 수 있습니다.

순수 유전체 DNA 용출

유전체 DNA는 50 ~ 200 µl 용출 완충액(AE)를 사용하여 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막으로부터 용출됩니다. 용출된 DNA는 다양한 체외 진단 다운스트림 분석을 포함한 여러 다른 다운스트림 분석에 즉시 사용할 수 있습니다. 용출 완충액(AE)을 컬럼에 적용하기 전에 온도가 실온(15 ~ 25°C)이 되도록 해야 합니다.

원심분리 후 스피ن 컬럼 멤브레인에 남아 있는 용출 완충액이 남아 있기 때문에 회수된 용출량은 컬럼에 적용된 용출 완충액(AE)의 용량보다 적을 수 있습니다. 회수되는 용출액의 양은 검체의 성질에 따라 다릅니다. 용출된 DNA는 용출 튜브(ET)에 수집되며 2 ~ 8°C에서 최대 4 주 동안 보관할 수 있습니다. 장기 보관의 경우 -20°C에서 보관하는 것이 좋습니다.

참고: 용출 안정성은 다양한 요인에 크게 의존하며 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 이것은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit에 대해 예시 다운스트림 공정과 함께 평가되었습니다. 사용자는 자신의 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 공정의 사용 설명서를 참조하거나 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증해야 합니다.

유전체 DNA의 수율 및 품질

DNA 수율은 검체와 시재료의 품질에 따라 달라집니다. 보다 소량의 용출은 용출액의 최종 DNA 농도를 증가시키지만 전체 DNA 수율을 약간 감소시킵니다. 계획된 후속 분석에 적합한 용출량을 사용하는 것이 좋습니다.

분리된 유전체 DNA의 수율 및 품질은 PCR과 같은 진단분자생물학의 모든 다운스트림 검출 절차에 적합합니다. 진단 분석은 제조사의 설명에 따라 실시해야 합니다.

QIAcube Connect MDx에서의 자동 정제

QIAcube Connect MDx는 핵산의 자동 분리 및 정제를 수행합니다. 단일 실행당 최대 12개의 검체를 처리할 수 있습니다.

QIAcube Connect MDx 를 사용하는 검체 준비는 수동 절차(용해, 결합, 세척 및 용출)와 동일한 단계를 따르므로 고품질 DNA 의 정제를 위해 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 계속 사용할 수 있습니다.

QIAcube Connect MDx 기기에서 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 자동화하는 경우, 기기는 자동 피펫팅으로 인한 무용 용량, 증발 및 추가적인 시약 소모로 인해 50 개 미만의 검체를 처리할 수 있습니다. QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 수동으로 사용했을 때 50 개의 검체 준비만 보장합니다.

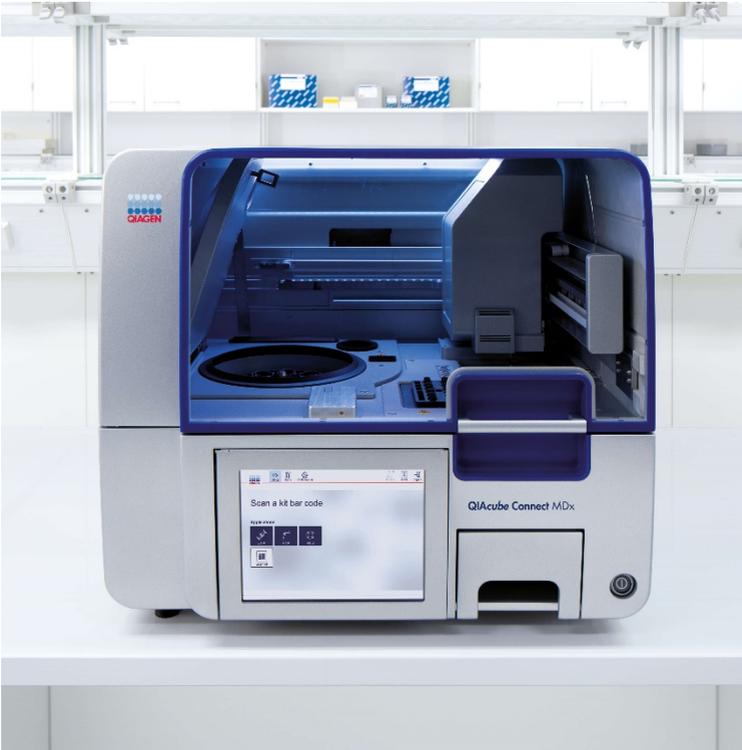


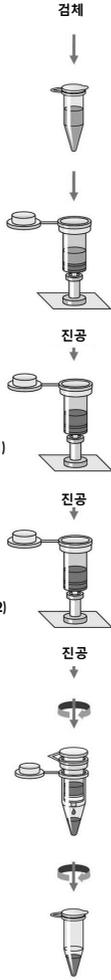
그림 1. QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP DNA Blood Mini 스펀 및 진공 절차

QIAamp 스펀 절차



QIAamp 진공 절차



시작하기 전에 프로토콜(25 페이지 및 29 페이지)의 내용을 숙지하십시오.

LT 에 20 μ l 의 QP, 200 μ l 의 검체, 200 μ l 의 AL 을 첨가.
15 초간 휘저음.

56°C 에서 10 분간 배양.

200 μ l 에탄올 첨가.

15 초간 휘저음.

용해물을 QIAamp Mini 스펀 컬럼으로 옮김.

스핀 절차: 1 분 동안 6000 x g 로 원심분리.

진공 절차: 진공 적용.

스핀 절차: QIAamp Mini 스펀 컬럼을 새 WT 에 넣고
500 μ l AW1 을 첨가한 뒤 6000 x g 로 1 분 동안
원심분리.

진공 절차: 750 μ l AW1 을 첨가하고 진공 적용.

스핀 절차: QIAamp Mini 스펀 컬럼을 새 WT 에 넣고,
500 μ l AW2 를 첨가한 뒤 1 분 동안 최대 속도(약
20,000 x g 또는 14,000rpm)로 원심분리.

진공 절차: 750 μ l AW2 를 첨가하고 진공 적용.

QIAamp Mini 스펀 컬럼을 WT 에 넣음.

3 분 동안 최대 속도(약 20,000 x g 또는
14,000rpm)로 원심분리.

QIAamp Mini 스펀 컬럼을 ET 에 넣음.

50~200 μ l AE 를 첨가하고 1 분 동안 배양.

1 분 동안 6000 x g 로 원심분리.

요약 및 설명

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 인정된 기술을 사용하여 200µl 전혈로부터 빠르고 쉽게 유전체 DNA 를 분리합니다.

여러 혈액 검체의 동시 처리를 위해 설계된 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차는 즉시 사용 가능한 정제된 DNA 를 산출합니다. 해당 절차는 구연산염 또는 EDTA 로 처리된 신선하거나 냉동된 전혈 및 혈액과 함께 사용하기에 적합합니다.

백혈구의 사전 분리는 필요하지 않습니다. 해당 절차는 페놀/클로로포름 추출이나 알코올 침전을 필요로 하지 않으며 최소한의 사용자 개입만을 필요로 하여 잠재적 감염성 검체를 안전하게 취급할 수 있습니다. 이 절차는 검체 간 교차 오염을 최소화하도록 고안되었습니다. 정제된 DNA 는 PCR 또는 기타 공정에 사용할 수 있으며, 또는 장기적으로 보관하기 위해 -20°C 에 보관할 수 있습니다.

이 간단한 QIAamp DSP 스피ن 및 진공 절차는 여러 검체의 동시 처리에 적합합니다. 일부 QIAamp 스피ن 절차는 표준화 및 사용 편의성을 높이기 위해 QIAcube Connect MDx 에서 완전 자동화할 수 있습니다(6 페이지).

진공 절차에는 진공 매니폴드(예: QIAvac Connecting System 이 있는 QIAvac 24 Plus) 및 약 800 ~ 900mbar 의 진공을 달성할 수 있는 진공 펌프(예; QIAGEN Vacuum Pump)가 프로토콜에 필요합니다. 진공 압력을 쉽게 모니터링하고 편리하게 진공 해제하기 위해 Vacuum Regulator 를 사용해야 합니다(QIAvac Connecting System 의 일부).

제공물

키트 내용물

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

카탈로그 번호

61104

준비 수

50

	의미	기호	수량
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes(세척 튜브 장착 QIAamp Mini Spin Column)(WT)(2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes(용출 튜브) (1.5ml)	ELU TUBE COL EXT	50
VC	VacConnectors	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes(용해 튜브) (1.5ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes(세척 튜브) (2ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL	Lysis Buffer*(용해 완충액)	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1*(세척 완충액 1)(농축액)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2*(세척 완충액 2)(농축액)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE	Elution Buffer*(용출 완충액)	ELU BUF	25 ml
PS	Protease Solvent†(단백분해효소 용액)	ELU BUF	2 ml
QP	QIAGEN Protease‡(QIAGEN 단백질분해효소)	QPROT	바이알 1 개
-	사용 지침(안내서)		1

* QIAcube Connect MDx 기기에서 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 자동화하는 경우, 기기는 자동 피펫팅으로 인한 무용 용량, 증발 및 추가적인 시약 소모로 인해 50 개 미만의 검체를 처리할 수 있습니다. QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 수동으로 사용했을 때 50 개의 검체 준비만 보장합니다.

† 염산 구아니딘이 함유되어 있습니다. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 자세한 내용은 안전성 정보(14 페이지)를 참조하십시오.

‡ 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다.

§ 재부유량 1.2ml. "시약 및 완충액 준비"(21 페이지)를 참조하십시오.

키트의 구성품

아래는 활성 성분이 포함된 키트의 주요 구성품에 대한 설명입니다.

시약	활성 성분	농도(w/w) [%]
QIAGEN Protease	서브틸리신	$\geq 0 \sim \leq 100$
AL	염산 구아니딘	$\geq 30 \sim < 50$
	말레산	$\geq 0.1 \sim < 1$
AW1	염산 구아니딘	$\geq 50 \sim < 70$

필요하지만 제공되지 않는 품목

추가 시약

- 에탄올(96 ~ 100%)*

소모품

- 피펫 † 및 피펫 팁(교차 오염을 방지하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁의 사용이 강력히 권장됨)
- 일회용 장갑

장비

- 56°C 에서 검체를 용해하기 위한 가열 블록†(1.5ml 마이크로 시험 튜브용)
- 마이크로 원심분리기†
- 측정 실린더(50ml)
- 교반기

진공 절차에만 해당

- QIAvac 24 Plus 진공 시스템(카탈로그 번호 19413) 또는 이와 동등한 것†
- VacValves(카탈로그 번호 19408)
- QIAvac Connecting System(카탈로그 번호 19419)
- Vacuum Pump(카탈로그 번호 84020)
- Vacuum Regulator(카탈로그 번호 19530)

* 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.

† QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차에서 적절히 처리되도록 하려면 기기(예: 피펫 및 가열 블록)를 점검하고 제조업체의 권장 사항에 따라 보정해야 합니다.

자동 절차에만 해당

- QIAcube Connect MDx 기기(카탈로그 번호 9003070)*
- Rotor Adapters(카탈로그 번호 990394)
- Rotor Adapter Holder(카탈로그 번호 990392)
- Sample Tubes CB(카탈로그 번호 990382; 검체 투입 튜브)
- Shaker Rack Plugs(카탈로그 번호 9017854)
- Reagent Bottles, 30ml(카탈로그 번호 990393)
- Filter Tips, 1000 μ l(카탈로그 번호 990352)
- Filter Tips, 200 μ l(카탈로그 번호 990332)
- SafeSeal Tube, 1.5ml(Sarstedt®, 카탈로그 번호 72.706)

* QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차에서 적절히 처리되도록 하려면 기기(예: 피펫 및 가열 블록)를 점검하고 제조업체의 권장 사항에 따라 보정해야 합니다.

경고 및 사전 주의사항

기기와 관련하여 발생한 중대한 사건을 제조업체 및/또는 사용자 및/또는 환자가 거주하는 국가의 규제 당국에 보고하는 데 있어 현지 규정을 따라야 할 수 있다는 점에 유의하십시오.

체외 진단용.

키트를 사용하기 전에 모든 지침을 주의 깊게 읽으십시오.

안전성 정보

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용합니다. 자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 해당 정보는 www.qiagen.com/safety 에서 편리하고 용량이 작은 PDF 형식으로 온라인에서 찾아볼 수 있으며, 해당 페이지에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾고 조회하고 인쇄할 수 있습니다.

<p>주의</p> 	<p>검체 준비 과정의 폐기물에 표백제나 산성 용액을 직접 가하지 마십시오.</p>
--	--

- 용해 완충액(A1) 및 세척 완충액 1(AW1)은 표백제와 결합할 때 반응성 높은 화합물을 형성할 수 있는 염산 구아니딘을 함유하고 있습니다. 이런 완충액이 들어 있는 액체를 흘린 경우, 적절한 실험실 세제 및 물로 청소하십시오. 흘린 액체에 감염체가 들어 있을 가능성이 있으면 해당 부분을 먼저 실험실 세제 및 물로 청소한 후 1%(v/v)의 차아염소산 나트륨으로 청소하십시오. 완충액 병이 손상되었거나 새면 사람의 부상을 피할 수 있도록 병을 폐기할 때 장갑과 보안경을 착용하십시오.

- QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차로 생성된 액체 폐기물의 잔류 감염성 물질에 대해 테스트하지 않았습니다. 잔류 감염성 물질로 인한 액체 폐기물의 오염은 가능성이 낮지만 완전히 배제할 수는 없습니다. 따라서 액체 폐기물은 감염성으로 간주하고, 지역 안전 규정에 따라 취급 및 폐기해야 합니다.
- 시료 및 검체는 감염 가능성이 있습니다. 검체 및 분석항목 폐기물은 현지 안전 절차에 따라 폐기하십시오.

비상 정보

CHEMTREC

미국, 캐나다 1-800-424-9300

미국, 캐나다 이외 지역 +1 703-527-3887

사전 주의사항

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 구성품에는 다음과 같은 위험 및 안전성 문구가 적용됩니다.

Buffer AL



내용물: 염산 구아니딘, 말레산. 경고! 삼키거나 흡입하면 해로울 수 있습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있습니다. 심각한 눈 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 몸에 이상을 느낄 시 독성물질 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 피부 자극 또는 발진이 발생하는 경우: 의사의 진찰/치료를 받으십시오. 오염된 의복을 벗고 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오.

Buffer AW1



내용물: 염산 구아니딘. 경고! 삼키거나 흡입하면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 심각한 눈 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 오염된 의복을 벗고 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오.

QIAGEN Protease



내용물: 서브틸리신. 위험! 삼키면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 심각한 눈 부상을 유발합니다. 흡입 시 알러지 또는 천식 증상이나 호흡에 어려움을 초래할 수 있습니다. 호흡기 자극을 초래할 수 있습니다. 먼지/연기/가스/연무/증기/비말을 흡입하지 마십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 호흡기 보호구를 착용합니다. 눈에 묻은 경우: 물로 몇 분 동안 주의하여 씻어냅니다. 콘택트 렌즈를 끼고 있으며 쉽게 뺄 수 있는 경우 빼냅니다. 계속 씻어냅니다. 노출 또는 우려 시: 즉시 중독 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 신선한 공기가 있는 곳으로 사람을 옮기고 편히 호흡할 수 있는 상태를 유지하십시오.

일회용품

폐기물에는 검체와 시약이 들어 있습니다. 폐기물은 독성 또는 감염성 물질을 함유할 수 있으며 적절하게 폐기해야 합니다. 적절한 폐기 절차는 현지 안전 규정을 참조하십시오.

자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 안전보건자료는 www.qiagen.com/safety 에서 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며 여기에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

시약 보관 및 취급

모든 구성품의 포장 상자와 라벨에 인쇄된 유효 기간 및 보관 조건에 유의해야 합니다. 유효 기간이 만료되거나 부적절하게 보관된 구성품은 사용하지 마십시오.

QIAamp Mini 스핀 컬럼은 도착 후 2 ~ 8°C 에서 보관해야 하며 키트 상자에 나와 있는 유통 기한까지 사용할 수 있습니다.

참고: 서로 다른 키트의 키트 구성품이 혼합되지 않도록 하려면 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 해당 키트 로트 번호로 레이블을 부착하십시오.

모든 완충액은 키트 상자의 유통 기한까지 실온(15 ~ 25°C)에서 보관할 수 있습니다.

동결 건조된 QIAGEN Protease(QP)는 성능에 영향 없이 실온(15 ~ 25°C)에서 키트 유효 기한까지 보관할 수 있습니다.

사용 중 안정성

재구성된 QIAGEN Protease(QP)는 2 ~ 8°C 에서 보관할 시 최대 1 년간(단, 키트 유효 기한까지만) 안정적입니다. QIAGEN Protease(QP) 저장 용액을 실온에서 장시간 보관하는 것은 피해야 합니다.

재구성된 세척 완충액 1(AW1) 및 재구성된 세척 완충액 2(AW2)는 실온(15 ~ 25°C)에서 보관 시 최대 1 년간(단, 키트 유효 기한까지만) 안정적입니다.

자동 절차를 위한 완충액을 준비하려면 *QIAcube Connect MDx 사용 설명서* (www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있음)에 있는 지침을 따르십시오.

시료 수집, 보관 및 취급

참고: 검체 안정성은 다양한 요인에 따라 크게 달라지며, 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 이것은 예시 다운스트림 공정을 평가되었습니다. 사용자는 자신의 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 공정의 사용 설명서를 참조하거나 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증해야 합니다.

일반적인 수집, 운송 및 보관 권장사항은 승인된 CLSI 지침 MM13-A “분자적 방법을 위한 시료의 수집, 운송, 준비 및 보관”을 참조하십시오. 또한 검체 준비, 보관, 운송 및 일반 취급 시에는 선택한 검체 채집 튜브에 대한 제조업체의 지침을 따라야 합니다. 채집 튜브 제조업체의 지침과는 상관 없이 정맥 전혈에서 유전체 DNA를 추출할 때는 ISO 20186-2:2019(E)를 고려해야 합니다.

참고: ISO 20186-2:2019(E)에 따르면, 혈액 채집 튜브의 헤파린은 분리된 핵산의 순도에 영향을 미칠 수 있으며, 용출액으로의 가능한 캐리오버는 일부 다운스트림 공정에서 억제될 수 있습니다. 따라서 항응고제로서 EDTA 또는 구연산염으로 처리된 혈액 검체를 사용하는 것이 좋습니다.

일차 튜브에서 새 혈액 검체를 사용하는 경우 검체 이송 전에 혈액 검체를 완전히 혼합합니다(예: 튜브를 여러 번 뒤집어서). 냉동 검체(최대 3 회의 동결/해동 사이클)는 37°C의 수조에서 완전히 혼합될 수 있도록 부드럽게 교반하여 빠르게 녹인 다음, 절차를 시작하기 전에 실온(15 ~ 25°C)에 평형시켜야 합니다. 3 번 이상 동결 및 해동된 혈액 검체를 사용하지 마십시오. 안정적인 검체 이송을 위해 검체 튜브에 거품이 발생하지 않도록 하십시오. 검체에 혈전이 생기지 않도록 하고 혈전 없이 검체를 옮기십시오. 냉동 검체를 해동하는 동안 형성된 동결침전제제는 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막이 막히게 하거나 QIAcube Connect MDx의 자동화된 절차를 방해할 수 있습니다. 동결침전제제가 보이면 흡입하지 않도록 주의하십시오.

정제된 DNA 의 수율과 품질은 혈액의 보관 조건에 따라 달라집니다. 신선한 혈액 검체가 더 나은 결과를 가져올 수 있습니다. 최대 10 일 동안 단기 보관할 경우 2 ~ 8°C 에서 보관하는 것이 좋습니다. 그러나 서던 블로팅(Southern blotting)과 같이 최대 절편 크기가 필요한 용도의 경우, 2 ~ 8°C 에서 최대 3 일까지만 보관하는 것이 좋습니다. 이 시간 이후에는 낮은 수준의 DNA 분해가 발생하기 때문입니다. 장기 보관(10 일 이상)의 경우 표준 항응고제가 들어 있는 튜브에 혈액을 채취하고(고분자량 DNA 가 필요한 경우 EDTA 가 바람직함) -20 또는 -80°C 에서 보관합니다.

중요 참고사항

프로토콜 시작 전 중요 사항

- 키트를 받은 후 키트 구성품들이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 블리스터 팩이나 완충액 병이 손상된 경우에는 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 "안전성 정보"(14 페이지)를 참조하십시오. 손상된 키트 구성품은 키트 성능을 떨어뜨릴 수 있으므로 사용하지 마십시오.
- 액체를 옮기는 중에는 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 교차 오염을 최소화하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 절차 내내 항상 일회용 장갑을 사용하고 검체 물질이 묻지 않았는지 정기적으로 확인하십시오. 장갑이 오염되었으면 폐기하십시오.
- 교차 오염을 최소화하려면 한 번에 한 개의 튜브만 개봉하십시오.
- 모든 펄스-볼텍싱 단계가 끝나면 마이크로 원심분리기 튜브를 잠깐 원심분리하여 뚜껑 안쪽의 액체 방울을 제거합니다. 사용자는 전체 절차 동안 검체 추적성이 유지되도록 주의해야 합니다.
- 모든 원심분리 단계는 실온(15 ~ 25°C)에서 수행됩니다.
- 로트 번호가 동일하지 않으면 다른 키트의 구성품을 현재 사용 중인 키트와 함께 사용하지 마십시오.
- 키트 시약이 미생물로 오염되지 않도록 주의하십시오.
- 잠재적 감염성 물질로 인한 감염 위험을 최소화하기 위해 당사는 검체가 용해될 때까지 환기가 잘 되는 곳에서 작업할 것을 권장합니다.
- 이 키트는 체외 진단에 관한 실험실 운영 기준을 교육받은 사람만 사용해야 합니다.

시약 및 완충액 준비

- QIAGEN Protease 준비

1.2ml 프로테아제 용제(PS)를 동결 건조된 QIAGEN Protease(QP)의 바이알에 첨가하고 조심스럽게 혼합합니다. 거품이 형성되지 않도록 바이알을 여러 차례 뒤집어서 혼합합니다. QIAGEN Protease(QP)가 완전히 용해되었는지 확인합니다.

중요: QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.

- 세척 완충액 1 준비

측정 실린더를 사용하여 에탄올(96 ~ 100%) 25 ml 를 19 ml 의 세척 완충액 1(AW1) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 재구성된 세척 완충액 1(AW1)을 실온(15 ~ 25°C)에서 보관하십시오.

중요: 절차 시작 전에 항상 병을 여러 차례 뒤집어서 재구성된 세척 완충액 1(AW1)을 혼합합니다.

- 세척 완충액 2 준비

측정 실린더를 사용하여 에탄올(96 ~ 100%) 30 ml 를 13 ml 의 세척 완충액 2(AW2) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 재구성된 세척 완충액 2(AW2)를 실온(15 ~ 25°C)에서 보관하십시오.

중요: 절차 시작 전에 항상 병을 여러 차례 뒤집어서 재구성된 세척 완충액 2(AW2)를 혼합합니다.

- 용출 완충액 준비

이 키트에는 용출 완충액(AE) 1 병이 제공됩니다. 용출 완충액(AE)의 오염을 방지하기 위해, 용출 완충액(AE)을 병에서 피펫팅할 때에는 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하고 그 후 즉시 병의 캡을 다시 닫을 것을 강력히 권장합니다.

중요: 용출 완충액(AE)은 보존 아지드화 나트륨을 함유하고 있으며, 이는 260 nm 에서 흡광도를 보입니다. 따라서 260 nm 에서 흡광도 측정으로 용출액 내 DNA 를 정량화할 때, 260 nm 및 280 에서 흡광도 측정으로 용출액 내 DNA 순도를 결정할 때, 또는 220 nm~350 nm 범위에서 흡광도를 스캔할 때, 공시료가 용출액과 동일한 농도의 아지드화나트륨을 함유하도록 해야 합니다. 예를 들어, 50 µl 용출액을 100 µl 물로 희석하여 흡광도 측정을 위한 용출액을 준비하는 경우, 50 µl 용출 완충액(AE)을 100 µl 물로 희석하여 공시료를 준비해야 합니다. 희석에는 신선한 증류수를 사용합니다.

QIAamp Mini 스피ن 컬럼 취급

핵산 증폭 기술의 민감성 때문에 QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 취급할 때는 검체 준비 간 교차 오염을 피하기 위해 다음과 같은 예방 조치가 필요합니다.

- 검체 또는 용액을 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에 조심스럽게 넣습니다. 컬럼의 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 검체를 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에 피펫팅합니다.
- 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 건드리지 마십시오.
- 한 번에 한 개의 QIAamp Mini 스피ن 컬럼만 개봉하고, 에어로졸이 생성되지 않도록 주의하십시오.

QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비

QIAamp Mini 스핀 컬럼, VacConnector(VC), VacValve 를 정확하게 설정했는지 확인합니다 (그림 2 참조).

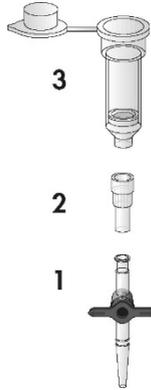


그림 2. 검체 진공 처리를 위한 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 구성품 조립.

(1) VacValve (2) VacConnector(VC), (3) QIAamp Mini 스핀 컬럼.

QIAvac 24 Plus 진공 시스템으로 진공 절차를 사용하는 경우, 검체가 헛갈리는 것을 방지하기 위해 그림 3 의 방식에 따라 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp Mini 스핀 컬럼에 라벨을 부착합니다(다음 페이지 참조). 이 그림을 복사하여 검체명과 함께 라벨로 부착할 수 있습니다. 다른 진공 시스템 또는 스핀 절차를 사용하는 경우, 유사한 방식을 사용할 것을 권장합니다.

날짜: _____

사용자: _____

실행 ID: _____

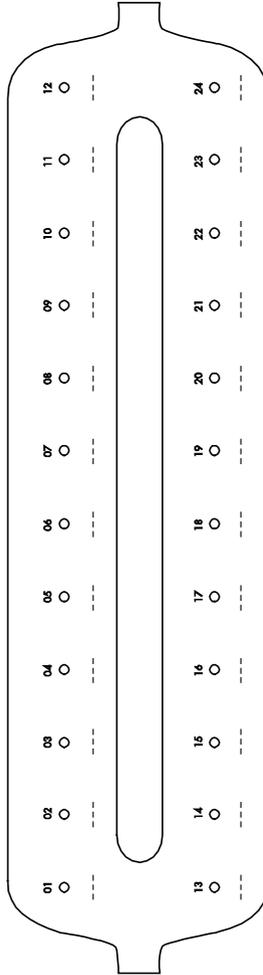


그림 3. QIAvac 24 Plus 진공 시스템에 사용 시 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp Mini 스핀 컬럼의 라벨 부착 방법.

절차

프로토콜: QIAcube Connect MDx 에서 마이크로 원심분리기/자동화된 정체를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제

마이크로 원심분리기를 사용하여 또는 QIAcube Connect MDx 에서 자동으로 EDTA 또는 구연산 처리된 200µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제용.

시작 전 중요 사항

- 아래의 절차는 혈액 검체 1 개를 처리하는 방법을 명시하고 있습니다. 그러나, 동시에 여러 검체를 처리할 수 있으며 그 수는 사용하는 마이크로 원심분리기의 용량에 따라 다릅니다.
- QIAcube Connect MDx 기기에서는 2 ~ 10 개 또는 12 개 검체의 자동 처리를 수행할 수 있습니다.
- 자동화를 위해서는 사용자 인터페이스의 지침을 따르고(QIAcube Connect MDx) *QIAcube Connect MDx 사용 설명서* (www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있음)를 참조하십시오.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈액 검체 온도가 실온이 되도록 하고 잘 혼합되었는지 확인합니다.
- 모든 시약 및 QIAamp Mini 스피ن 컬럼(폐쇄된 블리스터 내)이 실온에 평형되어 있는지 확인합니다.
- 4 단계에서 사용하기 위해 가열 블록을 56°C 로 설정합니다(수동 절차 및 오프보드 용해 자동 절차에 필요).
- 21 페이지의 "시약 및 완충액 준비"에 따라 세척 완충액 1(AW1)과 세척 완충액 2(AW2) 및 QIAGEN Protease(QP)를 준비하도록 합니다.

- 용해 완충액(AL)에 침전물이 형성되었다면 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
- QIAGEN 의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 사용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.

절차

- 마이크로 원심분리기를 이용한 수동 절차의 경우 1 ~ 15 단계를 따릅니다.
 - 이 절차는 3 가지 다른 버전으로 자동화할 수 있습니다.
 - 용출량: 100µl 완전 자동화됨(자동화가 1 단계부터 시작됨)
 - 용출량: 200µl 완전 자동화됨(자동화가 1 단계부터 시작됨)
 - 수동 용해: 10µl 씩 증가하는 100 ~ 200µl 의 오프보드 용해 및 용출량으로 부분적으로 자동화됨(자동화가 5 단계부터 시작됨)
1. 20µl 의 QIAGEN 단백질분해효소(QP)를 피펫으로 용해 튜브(LT)에 넣으십시오.
 - ① 사용하기 전에 재구성된 단백질분해효소의 유효 기한을 확인합니다.
 2. 200µl 의 혈액 검체를 용해 튜브(LT)에 첨가합니다.
 3. 200µl 의 용해 완충액(AL)을 용해 튜브(LT)에 첨가하고, 뚜껑을 닫은 후 ≥ 15 초 동안 펄스-볼텍싱하여 혼합합니다.
 - ① 효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)을 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다.
 - ① 용해 완충액(AL)은 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하고 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 양의 용해 완충액(AL)을 첨가해야 합니다.
 - ① QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.
 4. 56°C 에서 10 분간 배양합니다.
 5. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

i 수동 용해(1-5 단계)가 오프 보드로 수행되는 경우, 수동 용해에 대한 프로토콜을 이용하여 QIAcube Connect MDx 에서 다음 단계(6 ~ 15 단계)를 자동화할 수 있습니다.

6. 200 μ l 의 에탄올(96 ~ 100%)을 용해 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 ≥ 15 초 동안 펄스-볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.

7. 용해 튜브(LT)를 ≥ 5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

8. 7 단계에서 얻은 용해물 전체를 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

i 여러 검체를 처리하는 경우, 한 번에 1 개의 용해 튜브(LT)만 여십시오.

9. QIAamp Mini 의 뚜껑을 닫고 약 6000 x g 로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

i 6000 x g(8000rpm)로 원심분리 후 용해물이 완전히 막을 통과하지 않았다면, 최대 속도(최대 20,800 x g)로 1 분 동안 다시 원심분리합니다.

i 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 26 페이지의 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.

10. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 500 μ l 의 세척 완충액 1(AW1)을 첨가합니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

11. QIAamp Mini 의 뚜껑을 닫고 약 6000 x g 로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

12. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 500 μ l 의 세척 완충액 2(AW2)를 첨가합니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

13. QIAamp Mini 스피ن 컬럼의 뚜껑을 닫고 최대 속도(약 20,000 x g 또는 14,000rpm)로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고, 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

최대 속도(약 20,000 x g 또는 14,000rpm)로 3 분 동안 원심분리하여 막을 완전히 건조시킵니다.

❶ 원심분리기를 이용한 건조 과정을 건너뛰면 다운스트림 분석이 억제될 수 있습니다.

14. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 새로운 용출 튜브(ET)에 넣고, 여과액이 들어 있는 세척 튜브(WT)는 폐기합니다. QIAamp Mini 스피ن 컬럼의 뚜껑을 조심스럽게 열고 50 ~ 200 μ l의 용출 완충액(AE)을 막 중앙에 가합니다.

❶ 다운스트림 분석을 억제시킬 수 있는 잔류 세척 완충액으로 오염되지 않도록 하려면 새 용출 튜브를 사용하는 것이 중요합니다.

❶ 용출 완충액(AE)을 멤브레인 중앙에 분주하는 것은 특히 용출량이 작은 경우에 핵산과 용출 완충액(AE)을 최적으로 불러오기 위해 중요합니다.

15. 뚜껑을 닫고 실온에서 1 분 동안 배양합니다. 약 6000 x g(8000rpm)로 1 분 동안 원심분리하여 DNA 를 용출합니다.

❶ 용출 튜브 뚜껑이 로터의 회전 방향과 반대 방향으로 향하게 합니다(예: 로터가 시계 방향으로 회전하면 뚜껑을 시계 반대 방향에 맞춤).

❶ 모든 자동 절차의 경우, 실행을 완료한 후 바로 기기에서 용출액을 꺼내 적절히 보관합니다.

프로토콜: 진공 시스템을 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제

QIAvac 24 Plus 진공 시스템과 같은 진공 시스템을 사용하여 EDTA 또는 구연산 처리된 200 μ l 전혈 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제용.

시작 전 중요 사항

아래의 절차는 혈액 검체 1 개를 처리하는 방법을 명시하고 있습니다. 하지만 QIAvac 24 Plus 진공 시스템을 사용하면 동시에 최대 24 개의 검체를 처리할 수 있습니다.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈액 검체 온도가 실온이 되도록 하고 잘 혼합되었는지 확인합니다.
- 모든 시약 및 QIAamp Mini 스핀 컬럼(폐쇄된 블리스터 내)이 실온에 평형되어 있는지 확인합니다.
- 4 단계에서 사용할 가열 블록을 56°C 로 설정합니다.
- 21 페이지의 “시약 및 완충액 준비”에 따라 세척 완충액 1(AW1)과 세척 완충액 2 (AW2) 및 QIAGEN Protease(QP)를 준비하도록 합니다.
- 용해 완충액(AL)에 침전물이 형성되었다면 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
- 교차 오염을 최소화하기 위해 진공 시스템의 각 루어 어댑터에 VacConnector(VC)를 삽입합니다.
- 진공 시스템의 폐기물 용기는 비어 있어야 하며 모든 커플링은 올바르게 연결되어 있도록 합니다.
- 진공 시스템의 자세한 사용 설명 및 특히 유지보수 방법은 함께 제공된 안내서를 참고하십시오.
- QIAGEN 의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 사용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.

절차

- 20 μ l의 QIAGEN Protease (QP)를 피펫으로 용해 튜브(LT)에 넣으십시오.
 - ① 사용하기 전에 재구성된 단백분해효소의 유효 기한을 확인합니다.
- 200 μ l의 혈액 검체를 용해 튜브(LT)에 첨가합니다.
- 200 μ l의 용해 완충액(AL)을 용해 튜브(LT)에 첨가하고, 뚜껑을 닫은 후 ≥ 15 초 동안 펄스-볼텍싱하여 혼합합니다.
 - ① 효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)을 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다.
 - ① 용해 완충액(AL)은 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하고 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 양의 용해 완충액(AL)을 첨가해야 합니다.
 - ① QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.
- 56°C 에서 10 분간 배양합니다.
- 용해 튜브(LT)를 ≥ 5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.
- 200 μ l의 에탄올(96 ~ 100%)을 용해 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 ≥ 15 초 동안 펄스-볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.
- 용해 튜브(LT)를 ≥ 5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.
- QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 진공 시스템의 VacConnector(VC)에 삽입합니다. 주 진공 밸브(진공 펌프와 진공 매니폴드 사이)와 스크류 캡 밸브(진공 매니폴드의)가 닫혀 있는지 확인합니다. 진공 펌프를 켭니다.

블리스터 안의 QIAamp Mini 스피ن 컬럼이 들어 있는 세척 튜브(WT)(2 ml)를 폐기합니다. 진공은 연결 시스템(사용하는 경우)에만 가해지며, 진공 매니폴드에는 가해지지 않습니다.
- 7 단계에서 얻은 용해물 전체를 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

❗ 여러 검체를 처리하는 경우, 한 번에 1 개의 용해 튜브(LT)만 여십시오.

10. 주 진공 밸브를 엽니다. 용해물이 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 진공 매니폴드의 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

주 진공 밸브를 닫으면 진공은 연결 시스템(사용된 경우)에만 가해지며 진공 매니폴드에는 가해지지 않습니다.

❗ 진공을 빠르게 배출하기 위해 진공 매니폴드의 스크류 캡 밸브를 사용합니다.

❗ 동시에 여러 개의 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 처리하는 경우에는 이 진공 단계의 시간을 단축하기 위해 용해물이 통과한 후 각 컬럼의 VacValve 를 닫을 것을 권장합니다.

❗ 10 분 후 용해물이 완전히 막을 통과하지 않았다면, QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고, 뚜껑을 닫고 6000 x g(8000rpm)로 3 분 동안 또는 용해물이 완전히 통과될 때까지 원심분리합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 다른 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 31 페이지, 10 단계로 진행합니다.

❗ 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 30 페이지의 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.

11. 750µl 의 세척 완충액 1(AW1)을 테두리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오. 컬럼 뚜껑을 열어 둔 상태로 주 진공 밸브를 엽니다. 모든 세척 완충액 1(AW1)이 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

12. 750 μ l 의 세척 완충액 2(AW2)을 테두리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스피너 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스피너 컬럼 막을 건드리지 마십시오. 컬럼 뚜껑을 열어 둔 상태로 주 진공 밸브를 엽니다. 모든 세척 완충액 2(AW2)이 QIAamp Mini 스피너 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

13. QIAamp Mini 스피너 컬럼의 뚜껑을 닫고 진공 시스템에서 분리한 후 VacConnector(VC)를 폐기합니다. QIAamp Mini 스피너 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고, 최대 속도(약 20,000 x g 또는 14,000rpm)로 3 분 동안 원심분리하여 막을 완전히 건조시킵니다.

❶ 원심분리기를 이용한 건조 과정을 건너뛰면 다운스트림 분석이 억제될 수 있습니다.

14. QIAamp Mini 스피너 컬럼을 새로운 용출 튜브(ET)에 넣고, 여과액이 들어 있는 세척 튜브(WT)는 폐기합니다. QIAamp Mini 스피너 컬럼의 뚜껑을 조심스럽게 열고 50 ~ 200 μ l 의 용출 완충액(AE)을 막 중앙에 가합니다.

❶ 다운스트림 분석을 억제시킬 수 있는 잔류 세척 완충액으로 오염되지 않도록 하려면 새 용출 튜브(ET)를 사용하는 것이 중요합니다.

❶ 용출 완충액(AE)을 멤브레인 중앙에 분주하는 것은 특히 용출량이 작은 경우에 핵산과 용출 완충액(AE)을 최적으로 불러오기 위해 중요합니다.

15. 뚜껑을 닫고 실온에서 1 분 동안 배양합니다. 6000 x g(8000rpm)로 1 분 동안 원심분리하여 DNA 를 용출합니다.

❶ 용출 튜브(ET) 뚜껑이 로터의 회전 방향과 반대 방향으로 향하게 합니다(예: 로터가 시계 방향으로 회전하면 뚜껑을 시계 반대 방향에 맞춤).

❶ 본 프로토콜을 실시한 후에는 진공 시스템에 대한 유지보수 절차를 실시합니다(자세한 사항은 진공 시스템과 함께 제공된 안내서 참고).

품질 관리

QIAGEN의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit의 각 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 테스트됩니다.

제한 사항

이 시스템의 성능은 전혈을 사용하여 유전체 DNA 의 분리에 대해 검증되었습니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 사용에 대한 정보는 “설명 및 원리” 섹션에서 확인할 수 있습니다. 자세한 절차는 “프로토콜: QIAcube Connect MDx 에서 마이크로 원심분리기/ 자동화된 정체를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제” 섹션에 자세히 설명되어 있습니다.

사용자 실험실의 절차가 QIAGEN 성능 시험의 범위 내에 속하지 않는 경우에 시스템 성능을 검증하는 작업은 사용자의 책임입니다.

진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 위험을 최소화하려면 후속 공정에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 추가적인 검증을 위해서는 ICH Q2(R1) 분석 절차 검증: 텍스트 및 방법론(ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology)에 있는 의약품국제조화회의(International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH)의 지침이 권장됩니다.

생성된 모든 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 결과와 함께 해석해야 합니다.

성능 특징

적용 가능한 성능 특징은 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 더 자세한 정보는 또한 당사 기술 지원 센터의 자주 묻는 질문(Frequently Asked Questions, FAQ) 페이지를 참조하십시오. www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN 기술 서비스 소속 과학자들은 본 안내서의 정보 및/또는 프로토콜 또는 검체 및 분석 기술에 대해 가질 수 있는 어떠한 질문이든 기꺼이 답변해 드립니다(연락처 정보는 www.qiagen.com 을 방문해 주십시오).

의견 및 제안

일반 취급

- a) 검체 이송 중에 피펫 팁 막힘
- 검체를 이송하기 전에 혈액 검체를 완전히 혼합합니다(예: 튜브를 여러 번 뒤집어서). 냉동 검체는 37°C 의 수조에서 빠르게 녹이고 부드럽게 교반하여 완전히 혼합되도록 한 다음, 절차를 시작하기 전에 실온(15 ~ 25°C)에 평형시켜야 합니다.
- 검체에 혈전이 생기지 않도록 하고 혈전 없이 검체를 옮기십시오. 냉동된 검체의 해동 중 생성되는 동결침전제제는 QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막을 막거나 자동 절차 중에 문제로 이어질 수 있습니다.
- b) QIAamp Mini 스피ن 컬럼 막힘
- 스핀 작업 흐름:**
- 6000 x g(8000rpm)로 원심분리 후 용해물이 완전히 막을 통과하지 않았다면, 최대 속도(최대 20,800 x g)로 1 분 동안 다시 원심분리합니다.
- 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.
- 진공 작업 흐름:**
- 유속이 감소되는 경우, 진공 시간을 연장할 수 있습니다.
- 또는, (사용하는 경우) VacValve 를 닫고, 용해물이 소실되지 않도록 조심스럽게 VacConnector-VacValve 조립체를 QIAamp Mini 스피ن 컬럼에서 제거합니다.
- QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 진공 매니폴드에서 제거하고, 2 ml 세척 튜브에 넣은 후 최대 속도로 검체가 완전히 막을 통과할 때까지 회전시킵니다. 잔여 용해물이 들어 있는 VacConnector-VacValve 조립체를 다시 배치합니다. Vacuum Pump 를 켜고, VacValve 를 연 후, 계속해서 잔여 용해물을 로드합니다.
- QIAamp Mini 스피ن 컬럼이 계속해서 막히는 경우, 상기 절차를 반복합니다.
- 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.

의견 및 제안

일반 정보

반복 동결 및 해동으로 인해 동결 침전제제가 생성될 수 있습니다. 이로 인해 QIAamp Mini 스피ن 컬럼이 막힐 수 있습니다. 3 번 이상 동결 및 해동된 혈액 검체를 사용하지 마십시오. 냉동 검체를 37°C의 수조에서 빠르게 녹이고 부드럽게 교반하여 완전히 혼합되도록 한 다음 실온(15 ~ 25°C)에 평형시켜야 합니다.

- c) 용해 완충액(AI)에 침전물이 형성됩니다
용해 완충액(AI)을 56°C에서 배양하여 용해합니다.
- d) 용출량이 일정하지 않음
회수되는 용출액의 양은 검체의 성질에 따라 다릅니다.
원심분리 후 스피ن 컬럼 막에 의해 유지되는 잔류 용출 완충액(AE)으로 인해 회수되는 용출량은 컬럼에 적용된 용출 완충액의 용량보다 적을 수 있습니다.
용출 완충액(AE)을 멤브레인 중앙에 도포합니다. 용출 완충액(AE)을 멤브레인 중앙에 분주하는 것은 특히 용출량이 작은 경우에 핵산과 용출 완충액(AE)을 최적으로 불러오기 위해 중요합니다.
- e) 대략 800 ~ 900mbar에 이르지 못한 진공 압력
진공 매니폴드가 단단히 닫혀 있지 않습니다. 진공을 켜 후 진공 매니폴드의 뚜껑을 아래로 누릅니다. 진공 압력에 도달했는지 확인합니다. QIAvac 뚜껑의 개스킷이 낡았습니다. 매니폴드의 밀봉부를 육안으로 확인하고 필요 시 교체합니다.
VacValve가 낡았습니다. 모든 VacValves를 제거하고 VacConnectors (VC)를 바로 루어 연장부에 삽입합니다. QIAamp Mini 스피ن 컬럼을 VacConnectors (VC)에 삽입하고, 컬럼의 뚜껑을 닫은 후 진공을 켭니다. 진공 압력에 도달했는지 확인합니다. 필요 시 VacValve를 교체합니다.
진공 펌프 연결부에 누출이 있습니다. 루어 캡으로 모든 루어 연장을 닫고, 진공 펌프를 켭니다. 펌프가 켜진 후(그리고 Vacuum Regulator 밸브가 잠겨 있는 상태) 진공 압력이 안정적인지 확인합니다. 필요 시 펌프와 진공 매니폴드 간 연결부를 교체합니다.
여전히 진공 압력에 도달하지 못하면, 진공 펌프를 더 강력한 것으로 교체합니다.
- f) 자동화된 작업 흐름 내 문제의 경우
QIAcube Connect MDx 사용 설명서(www.qiagen.com의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있음)를 참조하십시오.

낮은 DNA 수율

- a) 불안정한 검체 용해
QIAGEN Protease (QP)가 고온에 장시간 노출되면, 활성을 소실할 수 있습니다. 새 검체와 신선한 QIAGEN 단백질분해효소(QP)를 사용하여 절차를 반복합니다. 위의 지침에 따라 QIAGEN Protease (QP)를 단백질분해효소 용제(PS)로 용해합니다. 거품이 형성되지 않도록 바이알을 여러 차례 뒤집어서 혼합합니다.

의견 및 제안

QIAGEN Protease(QP)가 완전히 용해되었는지 확인합니다. QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AI)에 직접 넣지 마십시오.

효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AI)을 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다. 용해 완충액(AI)은 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하고 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 양의 용해 완충액(AI)을 첨가해야 합니다.

- | | |
|--------------------------------------|---|
| b) 96 ~ 100%가 아닌 낮은 비율의 에탄올이 사용됨 | 새 검체와 96~100% 에탄올로 정제 절차를 반복합니다. 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오. |
| c) Buffer AW1 또는 Buffer AW2 가 잘못 준비됨 | 절차를 시작하기 전에 Buffer AW1 과 Buffer AW2 농축액을 올바른 용량의 96 ~ 100% 에탄올로 희석하고 병을 여러 번 뒤집어 혼합했는지 확인하십시오. |
| d) 혈액 검체를 올바르게 보관하지 않았습니다 | 정제된 DNA 의 수율과 품질은 혈액의 보관 조건에 따라 달라집니다. 신선한 혈액 검체가 더 나은 결과를 가져올 수 있습니다. 최대 10 일 동안 단기 보관할 경우 2 ~ 8°C 에서 보관하는 것이 좋습니다. 그러나 서던 블로팅(Southern blotting)과 같이 최대 절편 크기가 필요한 용도의 경우, 2 ~ 8°C 에서 최대 3 일까지만 보관하는 것이 좋습니다. 이 시간 이후에는 낮은 수준의 DNA 분해가 발생하기 때문입니다. 장기 보관(10 일 이상)의 경우 표준 항응고제가 들어 있는 튜브에 혈액을 채취하고(고분자량 DNA 가 필요한 경우 EDTA 가 바람직함) -20 또는 -80°C 에서 보관합니다. |
| e) 냉동 혈액 검체가 해동 후 제대로 혼합되지 않았음 | 냉동 검체는 37°C 의 수조에서 빠르게 녹이고 부드럽게 교반하여 완전히 혼합되도록 한 다음, 절차를 시작하기 전에 실온(15 ~ 25°C)에 평형시켜야 합니다. |

DNA 가 후속 반응에서 제대로 수행되지 않음

- | | |
|--------------------------|---|
| a) 용출액 내 DNA 가 매우 적거나 없음 | 가능한 이유는 "낮은 DNA 수율"을 확인하십시오. 가능하면 반응에 추가하는 용출액 양을 늘리십시오. |
| b) 부적절한 용출량이 사용됨 | 다운스트림 공정에 적합한 용출액의 최대 용량을 결정하십시오. 다운스트림 공정에 더해지는 용출액 양을 그에 따라 줄이거나 늘리십시오. 용출량은 비례적으로 조절할 수 있습니다. 적은 용량의 Buffer AE 로 용출을 실시하면 핵산 농도가 더 높아지지만 총 수율은 낮아질 수 있습니다. |
| c) 불충분한 DNA 가 사용됨 | 정제된 DNA 를 260nm 에서 흡광도를 분광 광도 측정법으로 정량화합니다. |
| d) 과도한 DNA 가 사용됨 | 과도한 DNA 는 일부 효소 반응을 억제할 수 있습니다. 정제된 DNA 를 260nm 에서 흡광도를 분광 광도 측정법으로 정량화합니다. |
| e) 잠재적인 억제제 캐리오버 | 용출 전에 반드시 건식 원심분리 단계를 수행하여 다운스트림 분석의 잠재적 억제제를 방지하십시오. 다운스트림 분석을 억제시킬 수 있는 잔류 세척 완충액으로 오염되지 않도록 하려면 새 용출 튜브(ET)를 사용하는 것이 중요합니다. |

기호

사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에 다음과 같은 기호가 있을 수 있습니다.

기호	기호 정의
	<N>회 반응에 충분한 시약 포함
	사용 기한
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746 의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	도착 시
	수령 시 개봉, QIAamp Mini 스피ن 컬럼은 2 ~ 8°C 에서 보관할 것
	카탈로그 번호
	로트 번호
	재료 번호(즉, 구성품 라벨)
	구성품
	내용물

기호	기호 정의
NUM	수
GTIN	국제 거래 단위 번호
Rn	R 은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n 은 개정 번호입니다
	온도 제한
	제조업체
	사용 설명서 참조
VOL	용량
	에탄올을 병에 첨가한 후 날짜를 기록하십시오
ADD	첨가
LYOPH	동결 건조됨
RCNS	재구성 용액
EtOH	에탄올

기호

기호 정의



염산 구아니딘



서브틸리신



다음 단계



사용 설명서 참조



중요 참고사항



의료기기 고유식별코드

주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 회분: QIAamp Mini Spin Columns, 완충액, 시약, 튜브, VacConnectors	61104
관련 제품		
QIAcube Connect MDx*	기기와 부품 및 공임 1 년 보장	9003070
부속품		
QIAvac 24 Plus [†]	1 ~ 24 개 스피ن 컬럼 처리용 진공 매니폴드: QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, 루어 플러그, 칩 커플링	19413
Vacuum Pump (230V, 50 Hz) [†]	범용 Vacuum Pump(용량 34 리터/분, 8mbar vacuum abs.)	84020
VacConnectors (500) [†]	루어 커넥터에 QIAamp 스피ن 컬럼과 함께 사용하는 500 개의 일회용 커넥터	19407
VacValves (24)	24 개 밸브, QIAvac 24 및 QIAvac 24 Plus 와 함께 사용	19408
Vacuum Regulator	QIAvac 매니폴드와 함께 사용	19530
QIAvac Connecting System	Vacuum Pump 로 진공 매니폴드에 연결할 시스템: 트레이, 폐기물 병, 튜브, 커플링, 밸브, 게이지, 24 개 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	240 회분: 일회용 로터 어댑터 240 개 및 용출 튜브(1.5ml) 240 개; QIAcube Connect MDx 와 함께 사용	990394

제품	목적	카탈로그 번호
Rotor Adapter Holder	12 개 일회용 로터 어댑터용 홀더; QIAcube Connect MDx 와 함께 사용	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	QIAcube Connect MDx 와 함께 사용하는, 스커트 베이스가 없는 코니칼 나사식 캡 튜브(2ml) 1000 개	990382
Shaker Rack Plugs	셰이커 랙 플러그(12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	뚜껑이 없는 시약병(30ml), 6 개 팩, QIAcube Connect MDx 와 함께 사용	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	일회용 필터 팁, 랙형, (8 x 128). QIAcube Connect MDx 와 함께 사용	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	일회용 필터 팁, 넓은 내경, 랙형, (8 x 128), 모든 프로토콜에 필요하지 않음. QIAcube Connect MDx 와 함께 사용	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	일회용 필터 팁, 랙형, (8 x 128). QIAcube Connect MDx 및 QIASymphony SP/AS 기기와 함께 사용	990332

* QIAcube Connect MDx 가 모든 국가에 제공되지는 않습니다. 추가적인 정보는 QIAGEN 기술 서비스에 문의하십시오.

† 진공 프로토콜에서 사용.

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

문서 개정 이력

개정판

설명

R1, 2022년 6월

버전 3, 개정 1

- IVDR 규정 준수를 위해 키트 버전 3 으로 업데이트
- 설명 및 원리 업데이트
- 제공된 재료(활성 성분 추가) 및 필요하지만 제공되지 않는 재료 업데이트
- 경고 및 예방 조치 업데이트(긴급 정보 및 폐기 섹션 추가)
- 시약 보관 및 취급 업데이트
- 시료 채취, 보관, 취급 업데이트
- 중요 참고 사항 및 절차 업데이트
- 제한 사항 업데이트
- 성능 특징 업데이트
- 기호 섹션 업데이트
- 주문 정보 업데이트

이 페이지는 빈 페이지입니다

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 제한적 라이선스 계약

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다.

1. 이 제품은 오직 제품과 함께 제공된 프로토콜과 이 안내서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN 은 제품과 함께 제공된 프로토콜, 이 안내서 및 www.qiagen.com 에서 제공하는 추가 프로토콜에 기술된 바와 같은 경우를 제외하고, 그의 지적 재산권 하에서 이 패널에 포함된 구성품을 이 패널에 포함되지 않은 구성품과 함께 사용하거나 통합할 수 있는 라이선스를 허여하지 않습니다. QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 이 추가 프로토콜의 일부를 제공하였습니다. QIAGEN 에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN 은 이를 보장하지 않으며 제 3 자의 권리를 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN 은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제 3 자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 이 패널 및 구성품은 일회 사용에 대해 라이선스가 허여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN 은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
5. 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN 은 어떤 법정에서든 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 주장할 수 있으며, 패널 및/또는 그것의 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 그것의 지적재산권을 주장하기 위한 어떤 소송에서 변호사 비용을 포함하여 그의 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

라이선스 조항의 업데이트에 대해서는 www.qiagen.com 을 참조하십시오.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 1127543 © 2022 QIAGEN, 모든 권한 보유.

